

ISOLASI BAKTERI SIMBION MOLUSKA PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI MULTI DRUG RESISTANT (MDR)

Muhammad Syaifudien Bahry^{1*}, Delianis Pringgenies²

¹Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Univesitas Diponegoro. Alamat korespondensi : Master.bahry@gmail.com

²Staf Pengajar Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Univesitas Diponegoro.

ABSTRAK

Bakteri *pathogen* memiliki kemampuan untuk resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. Bakteri ini dinamakan bakteri *Multi Drug Resistant* (MDR). Untuk mengatasi masalah tersebut maka perlu dilakukan terobosan mencari sumber antibakteri baru dari biota laut, yaitu moluska. Ketersediaan moluska di alam terbatas maka mikroorganisme simbion merupakan solusi yang dapat di tawarkan. pada moluska. Tujuan dari penelitian ini adalah Mengisolasi dan mengidentifikasi secara morfologi bakteri *agent* bakteri simbion moluska penghasil senyawa antibakteri MDR. Sampel moluska didapatkan dari perairan Tanjung Gelam Kepulauan Karimunjawa, Jepara, Jawa Tengah. Tahapan penelitian ini diawali dengan isolasi bakteri, Sreening bakteri penghasil senyawa anti-MDR dan uji antibakteri. Hasil isolasi bakteri didapatkan 54 isolat bakteri dari 6 spesies *molusca* yaitu *Littorina scaba*, *Nerita insculpta*, *Littorina* sp., *Vasum Ceramicum*, *Bivalvia*, *Nerita exuvia*. Hasil menunjukkan 4 isolat aktif terhadap bakteri uji MDR. Bakteri simbion kode NI 1, LS 3, NE 8, VC 5 terbukti memiliki aktifitas dengan isolat yang kode N1 merupakan isolat yang memiliki aktifitas tertinggi terhadap 2 bakteri MDR yakni *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil dari penelitian ini sangat berpotensi sebagai awal dari penanganan bakteri MDR dengan menggunakan bakteri simbion. Kedepannya penelitian ini dapat dikembangkan dalam bentuk antibiotik baru yang berkhasiat dalam menanggulangi serangan bakteri MDR.

Kata kunci : Antibakteri, Bakteri simbion, Moluska, Multidrug Resistent.

PENDAHULUAN

Hingga kini telah dilakukan berbagai eksplorasi dalam pencarian senyawa bioaktif yang berasal dari darat dan laut sebagai alternatif antibiotik baru. Pengembangan obat baru yang berasal dari biota laut, saat ini menjadi perhatian para peneliti dikarenakan tingginya keanekaragaman hayati laut serta keunikan struktur metabolit sekunder yang dihasilkannya. Senyawa bioaktif yang berasal dari laut dapat menjadi alternatif dalam pengembangan obat antibakteri yang baru (Murniasih, 2004).

Komunitas bakteri yang berasosiasi (simbion) yang hidup pada cangkang luar, di dalam jaringan dan lendir dari hewan moluska laut memiliki potensi yang sangat besar dalam dunia

farmakologi laut, karena memiliki bahan aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri, *cytotoxin* dan antioksidan sehingga sangat berpotensi sebagai agen bioteknologi yang kemudian diaplikasikan dalam bidang farmasi (Romanenko, et al. 2006).

Saat ini sudah terlalu banyak jenis bakteri patogen terhadap manusia yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. Resistensi bakteri patogen diketahui tidak hanya terhadap satu jenis antibakteri saja, melainkan terhadap beberapa jenis antibakteri. Hal ini dapat dilihat pada bakteri *Salmonella typhi* penyebab demam tifoid yang sudah resisten terhadap *ampisilin*, *kloramfenikol*, dan *kotrimoksazol*. Bakteri yang resisten terhadap beberapa jenis antibakteri ini dikenal dengan bakteri *Multi Drug Resistent* (MDR). Hal ini tentu menjadi kendala pada bidang kedokteran. Karena masalah tersebut kemudian mendorong untuk menemukan alternatif baru dalam penghasil senyawa antibiotik. Salah satunya adalah mencari dari bahan hayati laut, karena sumber bahan alam laut merupakan potensi yang besar bagi bangsa ini, karena sebagian wilayah Indonesia ada wilayah laut (Pringgenies, 2009).

Organisme yang menjadi pilihan dalam penelitian ini adalah moluska, karena pada beberapa jenis moluska terdapat senyawa bioaktif yang memiliki efek mematikan. Namun masalah yang timbul adalah ketersediaan suplai biota terbatas. Oleh karena itu untuk mengantisipasinya dapat dilakukan penelitian dengan mengambil dan memanfaatkan mikroorganisme simbiosis pada moluska tersebut yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya (Pringgenies, 2009) sehingga tidak akan mengurangi populasi moluska di alam.

Tujuan umum dari penelitian adalah untuk mencari dan menemukan agen bakteri yang memproduksi senyawa kimia bahan alam (*Natural Product*) dari laut yang berkhasiat menjadi sumber antibakteri. Sedangkan tujuan khusus adalah mengisolasi bakteri simbiosis moluska penghasil senyawa antibakteri MDR dari perairan Karimunjawa.

BAHAN DAN METODE

Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 jenis Gastropoda yaitu *Littorina scabra*, *Nerita insculpta*, *Littorina sp.* *Vasum Ceramicum* *Nerita exuvia* dan 1 jenis Bivalva yang

kemudian diambil bakteri simbiotiknya. Sampel moluca didapat dari padang lamun dan batuan karang dari Perairan Pantai Ujung Gelam kepulauan Karimunjawa, Jepara, Jawa Tengah dengan metode *Snorling*. Sedangkan Bakteri *pathogen E.coli* dan *S.aureus* yang didapat dari Laboratorium Tropical Marine Biotechnology Undip.

Preparasi Sampel

Sampeling moluska dilakukan dengan *scuba diving* dan kemudian diidentifikasi. Sampel moluska dimasukkan ke dalam kantong plastik steril kemudian dibawa ke Laboratorium dan dibilas dengan air laut steril. Moluska diambil jaringan lunaknya dengan memecahkan cangkangnya yang keras menggunakan mortar. Jaringan diambil menggunakan pinset steril dan diletakkan dalam petri disk kemudian dipotong. Jaringan moluska kemudian ditimbang 1 gr selanjutnya akan diencerkan (Radjasa al., 2007).

Jaringan moluska yang telah dipotong diencerkan. 1 gr sampel kemudian dimasukkan dalam 9 ml air laut steril yang diletakkan dalam tabung reaksi, maka akan didapatkan Masteran blanko pada pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya 1 ml pengenceran 10^{-1} diambil kemudian ditambahkan pada 9 ml air laut steril sehingga didapatkan pengenceran 10^{-2} . Begitu selanjutnya sampai pengenceran 10^{-5} . Dengan 6 sampel yang digunakan maka menggunakan 6 seri pengenceran (Radjasa et al., 2007).

Kultifasi Bakteri dan Purifikasi

Kultifasi dilakukan dengan mengambil 1 ml air laut pada pengenceran 10^{-5} kemudian diratakan (*Spread*) pada media zobell dalam petri disk kemudian di inkubasi selama 24 jam. Purifikasi dilakukan dengan mengisolasi 1 koloni bakteri yang telah ditumbuhkan pada tahap kultifasi. Kemudian dilakukan streak pada media zobell baru (Trianto, 2004; Radjasa et al., 2007).

Screening Bakteri

Screening dilakukan dengan metode *overlay* yaitu 100 μ l bakteri patogen pada fase logaritmik yang telah memenuhi standar kekeruhan Mc farlan's di ($\pm 10^7$ sel/mL), *dispread* pada media agar. Kemudian isolat bakteri hasil purifikasi di *overlay* pada media yang sebelumnya

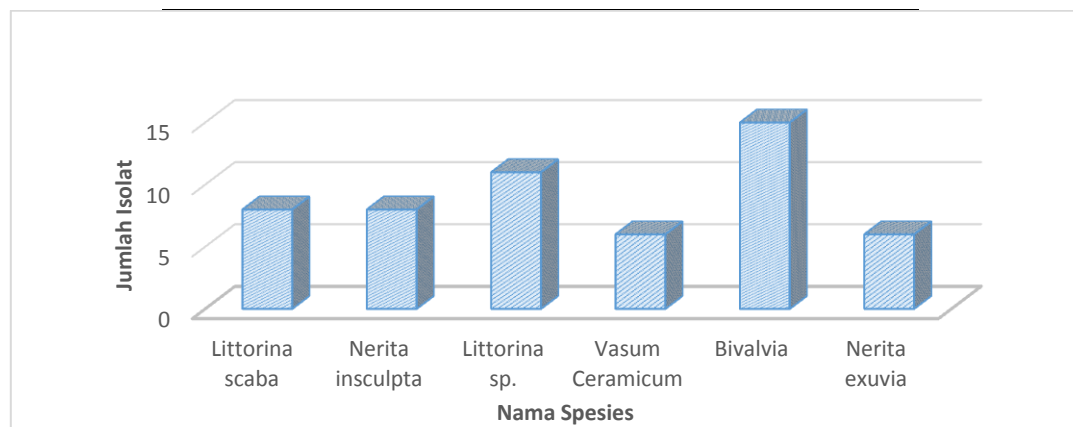
sudah terdapat bakteri *pathogen* di dalamnya. Kemudian di inkubasi selama 24 jam (Radjasa al., 2007; Pringgenies, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses isolasi bakteri dari 6 spesies moluska mendapatkan total 55 bakteri isolat dengan jumlah isolat bakteri setiap spesiesnya dapat dilihat pada Tabel 1. Dari seluruh jumlah bakteri isolate sampel bivalvia memiliki isolate terbanyak yakni 15 isolat bakteri simbiosis, sedangkan isolat paling sedikit didapat dari spesies *Nerita exuvia*. Bakteri isolat memiliki morfologi yang sangat beragam mulai dari variasi berbagai macam warna, bentuk, tepian dan permukaannya berbeda. Warna dari bakteri isolat yang di temukan adalah putih, kuning, coklat, orange dengan dominasi warna putih.

Tabel 1. Jumlah Isolat bakteri setiap spesiesnya

Nama Spesies	Jumlah Isolat
<i>Littorina scaba</i>	8
<i>Nerita insculpta</i>	8
<i>Littorina sp.</i>	11
<i>Vasum Ceramicum</i>	6
<i>Bivalvia</i>	15
<i>Nerita exuvia</i>	6



Gambar 1. Grafik perolehan bakteri isolat

Uji *sreaning* dan uji bakteri yang dilakukan memperlihatkan bahwa terdapat beberapa isolat yang memiliki aktifitas terhadap bakteri MDR diantaranya adalah isolat NI 1, LS 3, NE 8, VC 5. Aktifitas tertinggi ditunjukkan dengan bakteri isolat NI 1 yang dapat membunuh bakteri MDR *E.coli* dan *S.aureus*. Hai itu ditunjukkan dengan terbentuknya *Clear Zone* (zona bening) disekitar bakteri Simbion (Anand. et al, 2006).

Tabel 2. Hasil uji kualitatif antibakteri MDR dari bakteri isolat

Kode Isolat	Aktifitas Antibakteri MDR	
	<i>E.coli</i>	<i>S. Aureus</i>
NI 1	+	+
LS 3	-	+
NE 8	+	-
VC 5	+	-

Hasil zona bening yang didapatkan menunjukkan bahwa bakteri MDR dapat dihambat. Pertumbuhan bakteri MDR dapat terhambat diduga karena bakteri simbion mengeluarkan senyawa metabolit sekunder. Ketika bakteri simbion berhadapan dengan bakteri MDR, bakteri simbion mengeluarkan senyawa metabolit sekunder sebagai bentuk pertahanan diri terhadap ancaman organisme lain (Pringgenies, 2014).

Tabel 3. Karakteristik sifat koloni bakteri

no	kode isolat	sifat koloni			
		bentuk	Tepi	permukaan	warna
1	ni 1	tdk teratur	Bergerigi	rata	putih keruh
2	ls 3	titik	Utuh	rata	putih kekuningan
3	ne 8	tdk teratur	Berombak	rata	putih keruh
4	vc 5	serupa jamur	Keriting	rata	putih kekuningan

KESIMPULAN

Bakteri simbiosis yang memproduksi senyawa antibakteri MDR dari sampel moluska sudah didapatkan. Total 55 bakteri simbiosis terdapat 4 bakteri simbiosis yang memiliki aktifitas terhadap bakteri MDR yakni NI 1, LS 3, NE 8, VC 5. Aktifitas tersebut ditunjukkan dengan terbunuhnya bakteri patogen MDR yang berada sekitar bakteri simbiosis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapan kepada Dr. Delianis Pringgienies, M.Sc., Agus Trianto, M.Sc. Ph.D. yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Anand, T. P. Et al. (2006). Antimicrobial activity of marine bacteria associated with sponges from the waters off the coast of South East India. *www.elsevier.de/micres. Microbiological Research*. 161 : 252—262
- Harmawan, Adityo., Ali Ridho., dan Delianis Pringgienies. 2012. Uji Fitokimia dan Aktifitas Anti Bakteri Ekstrak Media Supernatan Bakteri Simbiosis *Vibrio* sp. *Gastropoda* *Oliva* *vidua* Terhadap Bakteri Multi Drug Resistant. *Journal of Marine Research*. Vol 1 (1) : 84-89.
- Hasanah, Nurul F. Et al. 2012. Karakterisasi Metabolit Sekunder Bakteri Simbiosis *Gastropoda* *Conus miles* dengan Metode GC-MS Sebagai Antibakteri MDR (Multi Drug Resistant). *Journal Of Marine Research*. Vol 1(2) : 197-202.
- Murniasih, Tutik. 2004. Potensi Mikroorganisme Sebagai Sumber Bahan Obat-Obatan dari Laut yang Dapat Dibudidayakan. *Oseanna (www.oseanografi.lipi.go.id)*. Vol. 29 (1) : 1 – 7.
- Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga.
- Pringgienies, Delianis. 2009. Bioprospeksi Bakteri Simbiosis Dari *Gastropoda* *Conus miles* Terhadap Strain Bakteri MDR(Multi Drug Resistant). *Jurnal Ilmu Kelautan*. Vol. 14(1) : 42-49.
- Pringgienies, Delianis. 2010. Characteristic Bioactive Compound Of The Mollusc Symbiotic Bacteria By Using GC-MC. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol. 2 (2) : 34-40.

- Pringgenies, Delianis. 2011. Microbial Assay Activity of Mollusks Symbion Bacteria. Jurnal Moluska Indonesia. Vol 2(2) : 89-98.
- Pringgenies, Delianis. 2014. Bakteri Simbion Gastropoda *Pleuroploca trapesium* Dari Perairan Ternate, Sebagai Alternatif Antibakteri MDR. Indonesian Journal Of Marine Science. Vol 19(1) : 55-62.
- Radjasa, Okky Karna. et all. 2007. Antagonic Actifity of a Marine Bacterium *Pseudononas luteoviolacea* TAB 4.2 Associated with Coral *Acropora* sp.
- Radjasa, Okky Karna. et all. 2007. Antibacterial Activity of MarineBacteria Associated with sponge *Aaptossp.* against Multi Drugs Resistant (MDR) strains. Jurnal Matematika Dan Sains. Vol 12(4) : 148-152
- Rheinheimer, 1992. Aquatic Microbiology, 4th Edition John Wiley and Sons Inc, Singapore. 10 pp.
- Romanenko, L. A. Et al. 2006. Isolation, phylogenetic analysis and screening of marine mollusc-associated bacteria for antimicrobial, hemolytic and surface activities. www.elsevier.de/micres. Microbiological Research. 163: 633-644
- Trianto, Agus et al. 2004. Ekstrak Daun Mangrove *Aegiceras corniculatum* Sebagai Antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Jurnal lmu Kelautan. Vol 9 (4) : 186 – 189.